第11卷 第4期
1990年11月

动 物 学 研 究
ZOOLOGICAL RESEARCH

Vol. 11, No. 4
Nov., 1990

季节及人工低温对大蟾蜍肌组织ATP酶的影响研究

郑元林
(徐州师范学院生物系)

刘德岷
(徐州医学科学研究所生化室)

摘 要

本文研究了大蟾蜍心肌和腓肠肌肌球蛋白钙激活ATP酶的活性。实验结果显示，大蟾蜍心肌和腓肠肌肌球蛋白钙激活ATP酶活性具有不同的季节变化规律。并且这种酶活性的季节变化不受人工低温环境因素的影响。此外，大蜍蟾心肌中ATP酶的活性始终高于腓肠肌的。上述酶活性的变化均具有一定的生理意义。

关键词：大蟾蜍，ATP酶，季节，人工低温

随着肌球蛋白ATP酶的发现，许多学者（Barany，1967；Scheuer，1979；朱平，1984等）对其性质进行了广泛的研究。ATP酶活性现已用来作为衡量肌肉收缩能力的生化指标之一。许多高等动物在不同活动状态、不同内分泌条件下ATP酶活性的变化规律已有许多报道(Scheuer，1979)。但对低等动物ATP酶活性的变化规律研究较少。考虑到大蟾蜍（*Bufo gargarizans*）在不同季节变化生活环境，并且在不同季节其活动能力及体内代谢水平是各不相同的（王培潮等，1985）。为此，我们探讨了大蟾蜍在不同季节及在人工低温条件影响下ATP酶活性的变化规律。

材 料 和 方 法

根据大蟾蜍的生活习性（邹寿昌，1985；晏安厚，1986等），我们于1987年7月在郊外采集了一批大蟾蜍，代表活动期（夏季）的状态，称为活动组，同年10月下旬采集的大蟾蜍，代表即将入眠的状态，称为冬眠前组；翌年元月初采集的大蟾蜍，代表冬眠期的状态，称为冬眠组；3月中、下旬采集的大蟾蜍，代表出蛰初期的状态，称为冬眠后组。四组大蟾蜍的采集地点相同，均系野生的自然状态下的动物。此外，将夏季采集的一部分大蟾蜍置于4℃人工条件下培养一周作为人工低温组。由于此时间不影响大蟾蜍体内的血糖水平（王培潮等，1985），故以此来观察人工低温环境条件对大蟾蜍ATP

本文1988年10月29日收到，1989年1月30日修回。

酶活性的影响。按邹寿昌方法（1966）检查全部个体，均为成年期或亚成年期。

样本从野外采集回来后，除人工低温组外，均立即取出心肌及腓肠肌。按朱平等方法（1984）制备肌球蛋白溶液及测定肌球蛋白钙激活ATP酶的活性。其中，按Pollard法（1982）测定无机磷的含量。按Lowry法（1951）测定制备的肌球蛋白溶液中蛋白质的含量。

钙激活ATP酶比活性以单位时间内单位重量蛋白质所催化ATP释放无机磷的微克分子数表示。即为μm Pi/mg·min。

各组数据以$\overline{X}\pm SE$表示，组间差异的显著性测验用t－检验法进行。

结 果

一、心肌肌球蛋白钙激活ATP酶活性

心肌肌球蛋白钙激活ATP酶活性在不同季节的变化见表1。

表1 大蟾蜍心肌肌球蛋白钙激活ATP酶活性在不同季节的变化

Table 1. Statistics of myosin Ca^{++}-ATPase activity of *Bufo gargarizans* cardiac muscles in different season

组 别* Group	动物数 Number	$\overline{X}\pm SE$	t-检验 t-test		结 论** Conclusion
a	10	0.47±0.12	$t_{ab}=2.74$	$0.01<P_{ab}<0.05$	EC
b	10	0.72±0.24	$t_{bc}=2.92$	$P_{bc}<0.01$	VEC
c	10	1.22±0.52	$t_{cd}=0.50$	$P_{cd}>0.05$	NEC
d	10	1.08±0.62	$t_{da}=2.93$	$P_{da}<0.01$	VEC

* a：冬眠前（Before hibernation）； b：冬眠期（Hibernation）；
c：冬眠后（After hibernation）； d：活动期（Summer）。

** EC：显著性差异（Evident change）； VEC：非常显著性差异（Very evident change）；
NEC：无显著性差异（No evident change）。

由表1可知，大蟾蜍心肌肌球蛋白钙激活ATP酶活性呈明显的季节性变化。从冬眠后开始到活动期，ATP酶活性处于高水平时期，其中以冬眠后这一阶段酶的活性最高，达1.22±0.52μm Pi/mg·min。但统计的结果表明，冬眠后与活动期的ATP酶活性无显著差异（$P>0.05$）。当大蟾蜍到冬眠前期时，心肌肌球蛋白Ca^{++}-ATP酶活性却降至全年的最低水平，为0.47±0.12μm Pi/mg·min。仅为活动期的43.52%（$P<0.01$）。动物到冬眠时，酶活性有所回升（$0.01<P<0.05$），但仍处于一个较低的水平上，为活动期的66.67%（$P<0.01$）。

二、腓肠肌肌球蛋白钙激活ATP酶活性

腓肠肌肌球蛋白钙激活ATP酶活性在不同季节的变化见表2。

从表2可知，腓肠肌肌球蛋白钙激活ATP酶活性全年变化的幅度及趋势与心肌相比有明显的不同。并且腓肠肌的酶活性始终低于心肌。

表 2　大蟾蜍腓肠肌肌球蛋白钙激活ATP酶活性在不同季节的变化

Table 2. Statistics of myosin Ca⁺⁺-ATPase activity of *Bufo gargarizans* gastrocnemius muscles in different season

组别* Group	动物数 Number	$\bar{X}\pm SE$	t-检验 t-test		结论 Conclusion
a	10	0.43±0.12	$t_{ab}=4.66$	$P_{ab}<0.01$	VEC
b	10	0.65±0.07	$t_{bc}=2.19$	$0.01<P_{bc}<0.05$	EC
c	10	0.55±0.11	$t_{cd}=0.93$	$P_{cd}>0.05$	NEC
d	10	0.49±0.16	$t_{da}=0.99$	$P_{da}>0.05$	NEC

表 2 中代号同表 1 (The substitute in table 2 is the same as in table 1)。

从冬眠后开始，经活动期至冬眠前这一漫长的时期内，尽管酶活性逐渐轻微下降，数据处理的结果表明它们均处于同一水平上（$P>0.05$）。到冬眠时，ATP酶活性却发生质的变化，上升至全年的最高水平，为活动期的132.65%（$P<0.01$）。

三、人工低温（4°C）对肌球蛋白钙激活ATP酶活性的影响

表 3　人工低温环境中（4℃）大蟾蜍心肌和腓肠肌肌球蛋白钙激活ATP酶活性变化

Table 3. Statistics of myosin Ca⁺⁺-ATPase activity of *Bufo gargarizans* under artifical low temperature (4℃)

组别* Group	动物数 Number	$\bar{X}\pm SE$	t-检验** t-test		结论 Conclusion
C	10	1.13±0.34	$t=0.19$	$P>0.05$	NEC
G	10	0.38±0.11	$t=1.74$	$P>0.05$	NEC

* C：心肌(Cardiac muscles)；G：腓肠肌(Gastrocnemius muscles)。

** 与活动期自然状态下相比较(Compared with under the state of nature in summer)。

表 3 显示了人工低温环境中（4°C）大蟾蜍心肌和腓肠肌肌球蛋白钙激活ATP酶活性水平。大蟾蜍在人工低温环境影响下，心肌及腓肠肌肌球蛋白钙激活ATP酶活性水平与同期自然状态下比较虽略有波动，但统计的结果表明两者的酶活性处于同一水平上，无显著差异（$P>0.05$）。说明至少短期内人工低温环境不影响大蟾蜍体内ATP酶的活性。

讨　论

自从肌球蛋白ATP酶发现以来，已对肌球蛋白ATP酶活性与不同生理状态间的关系等进行了广泛的探讨（Barany, 1967; Scheuer, 1979; 朱平等，1984）。对许多动物（主要是高等动物）的研究发现在不同活动状态；不同内分泌条件，不同血流动力学状态等条件影响下，动物的ATP酶活性均发生相应的变化，并与特定的生理机能相联系。我们的实验也表明，大蟾蜍心肌及腓肠肌肌球蛋白钙激活ATP酶活性呈现明显的季节

性变化。冬眠前，大蟾蜍心肌和腓肠肌的酶活性均下降至全年的最低水平，尤其是心肌中的酶活性下降幅度最大，仅为活动期的43.52%。此时心肌、骨骼肌活动保持在一个低水平上，以此减少物质能量的消耗，使新陈代谢率降低，这对动物机体有足够的物质能量，使其安全越冬具有重要意义。大蟾蜍在冬眠期间，心肌及腓肠肌中ATP酶活性又较冬眠前有所上升，这可能是由动物冬眠时垂体活动增强所致（Scheuer，1979；朱逸仁，1982）。由于大蟾蜍冬眠时的新陈代谢率是低下的（王培潮等，1985），所以大蟾蜍在冬眠时ATP酶活性的增高可能使动物保持一定的活动能力，以应付冬眠时环境的变化。大蟾蜍出蛰后立即进入繁殖期，动物的活动量及代谢水平均迅速提高（王培潮等，1985；聂捷夫等，1987）。我们的实验表明此时动物体内的ATP酶活性水平与同期中动物的这些生理活动需要是相一致的。并且，这种高水平的酶活性一直维持至活动期，以满足动物生长、发育的需要。

在观察人工低温环境条件对大蟾蜍肌球蛋白钙激活ATP酶活性的影响中，发现大蟾蜍心肌及腓肠肌的ATP酶活性均不受短期人工低温因素的影响，而保持同时期酶的活性水平。尽管在实验中观察到在人工低温环境因素影响下，动物的活动的确大为减少，但当将动物从低温环境移至正常的夏季环境时，动物的活动恢复同期水平。所以，短期内环境温度的改变并不影响动物体内ATP酶的活性；它对动物活动的影响可能是通过神经系统等途径来实现的。可见，随着季节的变化，大蟾蜍体内ATP酶的活性发生相应的变化并与体内一系列生理活动机能相一致；ATP酶活性不受短期环境温度变化的影响，可能是与动物的生活方式相适应。

实验还显示出腓肠肌中的ATP酶活性始终低于心肌。相对地讲，腓肠肌中ATP酶活性处于一个低水平上，这也许是大蟾蜍这一类动物活动缓慢的原因之一。另外，由于心肌的收缩程度影响着循环系统，故心肌中ATP酶活性在一年内大幅度的变化对不同时期的新陈代谢等因素起着一定的调节作用。

参 考 文 献

王培潮等 1985 大蟾蜍生理生态研究 Ⅰ.血糖的季节变化。两栖爬行动物学报 4(3):167—172。

朱平等 1984 心肌收缩蛋白质的研究（二）心肌损害动物模型心肌肌球蛋白ATP酶的变化特点及意义。白求恩医科大学学报 10(4):375—379。

朱逸仁 1982 蟾蜍血压及其影响因素。动物学杂志 17(2):30—33。

邹寿昌 1966 徐州市郊大蟾蜍生态的初步观察。动物学杂志 8(2):67—69。

邹寿昌 1985 大蟾蜍冬眠时肥满度及部分内脏器官的变化。两栖爬行动物学报 4(4):320—324。

晏安厚 1986 中华蟾蜍的越冬习性。两栖爬行动物学报 5(3):233—234。

聂捷夫等 1987 贵阳地区中华大蟾蜍越冬习性观察。动物学杂志 22(1):26—29。

Barany, M. 1967 ATPase activity of myosin correlated with speed of muscle shortening. *J. Gen. Physiol.*, 50:197—218.

Lowry, O. H. *et al.* 1951 Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193:265—275.

Pollard, T. D. 1982 Assays for myosin. *Methods of Enzymol.* 83:123—130.

Scheuer, J. *et al.* 1979 Cardiac contractile proteins; Adenosine triphosphatase activity and physiological function. *Circ. Res.* 45(1): 1—12.

STUDIES ON THE INFLUENCE OF SEASON AND LOW TEMPERATURE ON ATPase ACTIVITY OF *Bufo gargarizans* MUSCULAR TISSUE

Zheng Yuanlin
(*Department of Biology, Xuzhou Teachers College*)

Liu Demin
(*Department of Biochemistry, Xuzhou Institute of Medical Science*)

This paper studies the myosin Ca^{++}-ATPase activity of *Bufo gargarizans* cardiac muscles and gastrocnemius muscles. The experimental results imply that the changes of myosin Ca^{++}-ATPase activity of *B. gargarizans* cardiac muscles and gastrocnemius muscles take place depending on the active law of theirs in different season, and artifical low temperature has no effect on above changes. In addition, the myosin Ca^{++}-ATPase activity of cardiac muscles is consistently higher than of gastrocnemius muscles in different season. These changes of Ca^{++}-ATPase activity are important for physiological actions.

Key words: *Bufo gargarizans*, ATPase, Season, Artifical low temperature